

Optimasi Aktivitas Bakteriosin yang Dihasilkan oleh Bakteri *Lactobacillus plantarum* dari Minuman *Ce Hun Tiau*

Optimization of Bacteriocin Activity Produced by Lactobacillus plantarum Bacteria from Ce Hun Tiau Beverages

Rafika Sari*, Pratiwi Apridamayanti, Melly Octaviani

Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Pontianak. 78124

ABSTRAK

Bakteriosin didefinisikan sebagai suatu senyawa protein yang memiliki bobot molekul kecil dan mempunyai aktivitas sebagai antibakteri. Bakteriosin telah banyak diaplikasikan sebagai pengawet alami makanan, karena efektif mencegah pertumbuhan bakteri patogen pada makanan dan minuman. Penelitian ini bertujuan untuk mengoptimalkan aktivitas bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat yaitu *Lactobacillus plantarum* dari minuman *Ce hun tiau* dengan uji pH dan pemanasan terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Di dalam penelitian ini bakteri *Lactobacillus plantarum* yang telah diisolasi dari minuman *Ce hun tiau* dikarakterisasi dengan uji pewarnaan Gram. Kemudian dilanjutkan dengan ekstraksi bakteriosin dari bakteri *Lactobacillus plantarum* yang telah diinkubasi dalam media *deMan Rogose Sharpe Broth*. Selanjutnya diuji konfirmasi menggunakan enzim proteolitik dan uji aktivitas pengaruh pH (2, 4, 6, 8, dan 10) dan suhu (40°, 60°, 80°, 100°, dan 121°C) terhadap aktivitas bakteriosin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteriosin memiliki aktivitas terhadap *Escherichia coli* namun tidak memiliki aktivitas terhadap *Staphylococcus aureus*. Zona hambat terbentuk pada pH 2 sampai 6 dan pada rentang suhu 40°C sampai 121°C.

ARTICLE HISTORY

Received: October 2017

Revised: December 2017

Accepted: February 2018

Kata kunci : bakteriosin; *Lactobacillus plantarum*; aktivitas antibakteri

ABSTRACT

Bacteriocin is a protein compound with a small molecular weight that has an antibacterial activity. Bacteriocin has been widely applied as a natural food preservative, as it effectively prevents the growth of pathogenic bacteria in foods and beverages. The aim of this research was to know the activity of bacteriocin produced by lactic acid bacteria *Lactobacillus plantarum* from *Ce hun tiau* beverages against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* with different pH and temperature treatments. In this study, *Lactobacillus plantarum* bacteria isolated from *Ce hun tiau* beverages were characterized by Gram staining test. Bacteriocin was extracted from *Lactobacillus plantarum* bacteria which had been incubated in *deMan Rogose Sharpe Broth* media. Confirmation test using proteolytic enzyme and bacteriocin activity test with different pH (2, 4, 6, 8, and 10) and temperature (40°, 60°, 80°, 100°, and 121°C) treatments were conducted. The results showed that bacteriocin had antibacterial activity against *Escherichia coli* but had no activity against *Staphylococcus aureus*. The inhibition zone was formed at pH 2 to 6 and at temperature range of 40°C to 121°C.

Keywords: bacteriocin; *Lactobacillus plantarum*; antibacterial activity

*corresponding author

Email: rafikasari.untan@gmail.com

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki berbagai jenis makanan dan minuman tradisional. Makanan dan minuman tradisional umumnya mudah mengalami kerusakan dan tidak memiliki daya simpan yang lama. Belakangan ini makanan dan minuman tradisional dimodifikasi dengan penambahan pengawet kimia agar tetap bertahan lama selama masa penyimpanan. Pengawet yang sering digunakan pada makanan dan minuman salah satunya yaitu *sodium benzoate*. Penggunaan bahan pengawet ini memiliki batas maksimum untuk dikonsumsi. Hasil penelitian yang dilakukan pada tikus menunjukkan bahwa efek konsumsi *sodium benzoate* pada konsentrasi 60 dan 120 mg/kg berat badan menurunkan jumlah sel darah putih (Shahmohammad *et al.*, 2016). Berdasarkan efek yang ditimbulkan maka perlu dikembangkan suatu bahan pengganti pengawet kimia, salah satunya yaitu pengawet alami (biopreservatif) yang tidak menimbulkan efek samping pada kesehatan.

Pengawet alami dapat diperoleh melalui Bakteri Asam Laktat (BAL). Sebab BAL dapat menghasilkan suatu zat yang dapat mencegah kerusakan pada makanan yaitu bakteriosin. Penggunaan bakteriosin sebagai biopreservatif dikarenakan adanya aktivitas antibakteri (Twomey *et al.*, 2002). Aktivitas antibakteri ini dimanfaatkan untuk mencegah bakteri pembusuk berkembang pada makanan, seperti bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Bakteriosin sendiri didefinisikan sebagai suatu senyawa protein yang memiliki bobot molekul kecil dan mempunyai aktivitas sebagai antibakteri atau bakteriostatik (Jack *et al.*, 1995).

Penggunaan bakteriosin dalam pengawetan makanan dipengaruhi oleh sifat-sifat bakteriosin tersebut mengingat dalam pengolahan makanan melibatkan proses pemanasan dengan suhu yang cukup tinggi, pH yang beragam, dan sebagainya. Aktivitas bakteriosin berbeda-beda terhadap kisaran pH dan suhu. Isolat unggulan BAL yang telah teridentifikasi dari *Ce Hun Tiau* yaitu *Lactobacillus plantarum* (Deslianri *et al.*, 2016). *Lactobacillus plantarum* yang diisolasi dari *Ce Hun Tiau* menghasilkan bakteriosin yang perlu dioptimasi lebih lanjut aktivitasnya sebagai agen biopreservatif. Berdasarkan latar belakang tersebut, maka dilakukan penelitian ini guna mengetahui kondisi optimum agar aktivitas bakteriosin yang dihasilkan maksimum dan dapat dimanfaatkan sebagai agen biopreservatif pilihan dalam pengawetan makanan.

METODE

Alat-alat yang digunakan adalah autoklaf (HL 36Ae), *beaker glass* (Iwaki pyrex), botol kaca 100 ml, cawan petri (Iwaki pyrex), *cooler box*, *cover glass*, erlemeyer

500 ml dan 1000 ml (Iwaki pyrex), filter bakteri (Millipore 0,22 μ L), gelas ukur 100 ml (Iwaki pyrex), *hot plate* (SI Analytics GmbH D-55122), inkubator (Memmert E24899), jangka sorong (Tricle Brand 150MMX0.005/6"X1/128"), jarum ose, kertas saring, kertas merang, labu ukur 100 ml (Iwaki pyrex), *Laminar Air Flow* (LAF) Cabinet, lemari pendingin (SHARP), mikropipet (Rainin E1019705K), mikrosentrifuse berpendingin (Tomy MX-105), mikroskop (Olympus CX22LED), *object glass*, oven (Memmert UP400), pembakar Bunsen, pH meter (Hanna), pinset, pipet tetes, pipet volume 10 ml dan 25 ml (Iwaki pyrex), plastik tahan panas (Wayang), sendok *stainless*, sendok tanduk, tabung reaksi (Iwaki pyrex), termometer, dan timbangan analitik (Ohaus PA2102).

Bahan-bahan yang digunakan adalah *aquadest*, *aquadest* steril, alkohol 70%, asam klorida (HCl), *buffer* fosfat, enzim tripsin (Sigma-Aldrich, USA), enzim katalase (Sigma-Aldrich, USA), etanol 96%, kristal violet, larutan Mc. Farland, lugol, media de Man-Rogosa-Sharpe Agar (MRSA) (Merck, Jerman), media de Man-Rogosa-Sharpe Broth (MRSB) (Merck, Jerman), media Mueller Hinton Agar (MHA), natrium hidroksida (NaOH), safranin, dan spiritus. Bakteri yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* FNCC-0067 dan *Escherichia coli* FNCC-0091 yang merupakan koleksi dari Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Tanjungpura.

Pengambilan Sampel

Sampel *Lactobacillus plantarum* telah diisolasi dari minuman *Ce hun tiau* yang diperoleh dari pedagang kakilima (Deslianri *et al.*, 2016).

Konfirmasi Bakteri Asam Laktat

Peremajaan BAL dilakukan sebelum proses konfirmasi BAL. Peremajaan BAL dilakukan pada suhu 32°C selama 24 jam. Kemudian dilanjutkan dengan konfirmasi BAL menggunakan uji pewarnaan Gram. Bakteri difiksasi di atas gelas preparat dan ditetaskan dengan Kristal violet selama dua menit. Kemudian dibilas dengan aquades dan dikering-udarkan. Setelah kering, ditetaskan larutan lugol dan didiamkan selama satu menit. Preparat dicuci dengan pemucat warna yaitu etanol 96% selama 30 detik, kemudian dicuci segera dengan aquades dan ditiriskan. Kemudian bakteri ditambahkan safranin dan didiamkan selama 1 menit. Preparat dicuci dengan aquades, lalu dikeringkan dan diperiksa dibawah mikroskop. Bakteri yang termasuk dalam kelompok Gram positif akan menunjukkan warna ungu atau biru keunguan, sedangkan kelompok bakteri Gram negatif akan menunjukkan warna merah safranin (Waluyo, 2008).

Ekstraksi Bakteriosin

Isolat BAL ditumbuhkan dalam media MRS cair 5,0

mL, kemudian di-*vortex* hingga homogen, dan setelah itu diinkubasi pada suhu 32°C selama 24 jam. Kultur cair disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 RPM (*Rotary per Minute*) pada suhu 4°C selama 15 menit. Filtrat dinetralkan hingga pH 7,0 menggunakan pH meter dengan menambahkan larutan NaOH 1 N. Filtrat disterilkan dengan filter bakteri berdiameter 0,22 µm ke dalam tabung steril untuk memperoleh supernatan antibakteri (Usmiati & Mawarti, 2007).

Uji Aktivitas Bakteriosin

Metode difusi agar digunakan dalam uji aktivitas bakteriosin. Sebanyak 20 µL supernatan antibakteri ditetaskan pada kertas cakram steril berdiameter 5 mm. Kertas cakram diletakkan diatas media MHA yang mengandung bakteri indikator (*S.aureus* dan *E.coli*). Diameter zona hambat yang dihasilkan di sekitar kertas cakram diukur dengan menggunakan jangka sorong setelah diinkubasi selama 24 jam suhu 37°C (Deslianri *et al.*, 2016).

Uji Sensitivitas Bakteriosin terhadap Enzim Proteolitik

Disiapkan masing-masing enzim tripsin dan katalase sebanyak 750 µL konsentrasi 1 mg/mL dilarutkan dalam dapar fosfat pH 7,6 untuk enzim tripsin dan pH 7,0 untuk enzim katalase kemudian sebanyak 250 µL supernatan bakteriosin ditambahkan kedalam enzim yang telah disiapkan, kemudian diinkubasi selama 2 jam pada suhu 25°C. Filtrat disterilkan dengan filter *Millipore* berdiameter 0,22 µm ke dalam tabung steril. Sebanyak 20 µL supernatan antibakteri ditetaskan pada kertas cakram steril berdiameter 6 mm. Kertas cakram diletakkan diatas media MHA yang mengandung bakteri indikator (*E.coli* dan *S.aureus*). Diameter zona hambat yang dihasilkan di sekitar kertas cakram diukur dengan menggunakan jangka sorong setelah diinkubasi selama 24 jam suhu 37°C (Sari *et al.*, 2011).

Pengaruh pH terhadap Aktivitas Bakteriosin

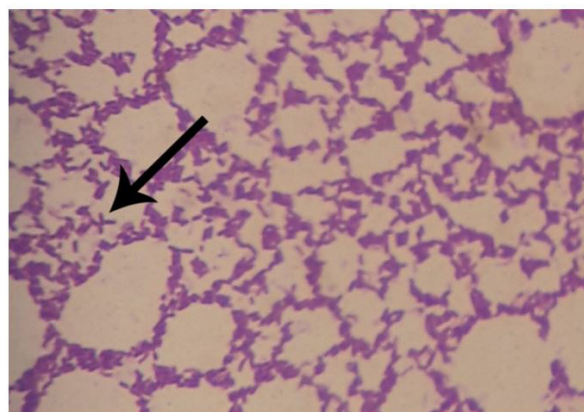
Sebanyak 5 ml bakteriosin dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berbeda dan kemudian diatur pH 2, 4, 6, 8, dan 10 menggunakan HCl dan NaOH dan inkubasi selama 4 jam pada suhu ruang. Aktivitas bakteriosin kemudian diuji dengan metode difusi agar menggunakan bakteri *S. aureus* dan *E.coli* (Saad *et al.*, 2015).

Pengaruh Suhu Pemanasan terhadap Aktivitas Bakteriosin

Sebanyak 5 ml bakteriosin dipanaskan pada suhu (40°C, 60°C, 80°C, 100°C selama 30 menit) di *hot plate* dan 121°C selama 15 menit di autoklaf. Aktivitas bakteriosin kemudian diuji dengan metode difusi agar menggunakan bakteri *E.coli* dan *S.aureus* (Ogunbawo *et al.*, 2003).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolat BAL (*Lactobacillus plantarum*) yang telah diisolasi dari minuman *Ce hun tiau* diremajakan kembali untuk mendapatkan kultur kerja yang baru dan siap digunakan dalam tahapan penelitian selanjutnya. Peremajaan dilakukan pada suhu 32°C selama 24 jam. Bakteri asam laktat diinkubasi selama 24 jam karena semakin lama waktu inkubasi maka pH media semakin kecil, penurunan pH mengakibatkan peningkatan kadar asam organik yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat (Khoiriyah *et al.*, 2014). Berdasarkan hasil peremajaan diperoleh bakteri yang tumbuh pada media MRSA adalah koloni berbentuk bulat dan berwarna putih. Kemudian dilanjutkan dengan konfirmasi BAL dengan uji pewarnaan Gram. Hasilnya menunjukkan bahwa isolat tersebut merupakan golongan bakteri Gram positif yang ditandai dengan terbentuknya warna ungu pada sel bakteri dan berbentuk batang, memiliki susunan tunggal ataupun berkelompok seperti rantai pendek. Hal ini sesuai dengan bentuk BAL khususnya *Lactobacillus plantarum* yang merupakan bakteri Gram positif yang memiliki bentuk sel batang (Breed *et al.*, 1985) (Gambar 1).



Gambar 1. Hasil Pewarnaan Gram Bakteri *Lactobacillus plantarum*

Supernatan yang diperoleh setelah proses sentrifugasi memiliki nilai pH awal 4,6. Nilai pH awal yang rendah menunjukkan bahwa asam-asam organik telah dibentuk oleh *Lactobacillus plantarum* yang termasuk ke dalam BAL. Kemudian pH dinetralkan dengan NaOH untuk mencegah asam laktat yang terdapat di dalam supernatan tidak menutupi aktivitas dari bakteriosin, lalu difiltrasi untuk mendapatkan supernatan bebas sel (Todorov *et al.*, 2005).

Hasil pengujian bakteriosin terhadap bakteri indikator *Escherichia coli* yaitu terbentuk zona hambat di sekeliling cakram sebesar 6,24±0,08 mm (Gambar 2). Hal tersebut menunjukkan bahwa terjadinya aktivitas

penghambatan pertumbuhan terhadap bakteri indikator. Semakin besar zona hambat yang terbentuk maka semakin besar aktivitas penghambatan bakteriosin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus plantarum*. Namun, pada bakteri indikator *Staphylococcus aureus*, tidak terbentuk zona hambat di sekeliling cakram. Bakteriosin merupakan protein ekstraseluler yang memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri Gram positif maupun Gram negatif. Bakteriosin memiliki spektrum luas dalam menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk dan bakteri patogen (Sifour, 2012). Hasil uji dengan tidak terbentuknya zona hambat pada bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan bahwa bakteriosin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus plantarum* tidak mempunyai aktivitas terhadap *Staphylococcus aureus*. Hasil ini berbeda dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Deslianri yang menyatakan bahwa bakteriosin dari *Lactobacillus plantarum* memiliki zona hambat terhadap *Staphylococcus aureus* (Deslianri et al., 2016). Hal ini kemungkinan disebabkan perbedaan strain *Staphylococcus aureus* sebagai bakteri indikator. Menurut Todorov et al, *Lactobacillus plantarum* ST8SH tidak memiliki aktivitas terhadap beberapa strain bakteri *Staphylococcus aureus* namun memiliki aktivitas yang cukup besar pada 103 strain *Listeria monocytogenes* serta beberapa strain *Lactobacillus plantarum* (Todorov et al., 2015).



**Gambar 2. Zona Hambat Bakteri Indikator
*Escherichia coli***

Enzim proteolitik yang digunakan dalam uji sensitivitas bakteriosin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus plantarum* yaitu enzim tripsin, yang diamati berupa zona hambat yang hilang. Berdasarkan hasil yang diamati didapatkan zona hambat yang hilang pada kedua bakteri indikator yaitu *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* akibat dari penambahan enzim tripsin pada supernatan bakteriosin. Hasil yang diperoleh sama seperti penelitian Hatta et al, yang menyatakan bahwa aktivitas bakteriosin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus plantarum* A-1 setelah penambahan enzim tripsin menghilang (Hatta et al., 2010). Hal ini membuktikan

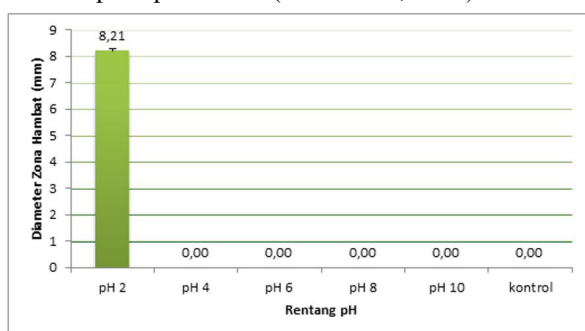
bahwa bakteriosin merupakan protein alami yang dapat dirusak oleh salah satu enzim yang terdapat didalam saluran pencernaan dan membuatnya aman dikonsumsi oleh manusia. Enzim proteolitik yang kedua digunakan dalam uji sensitivitas bakteriosin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus plantarum* yaitu enzim katalase, yang diamati berupa zona hambat yang tetap terlihat. Hal ini dilakukan untuk membuktikan bahwa zona hambat yang terbentuk bukan disebabkan oleh senyawa peroksida melainkan berasal dari bakteriosin itu sendiri. Hasil yang diperoleh dari pengujian sensitivitas bakteriosin dengan enzim katalase adalah tidak terbentuk zona hambat terhadap kedua bakteri indikator (*Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*). Menurut Sari et al, pada perlakuan dengan enzim katalase, zona hambat yang dibentuk oleh bakteriosin tetap dapat terlihat disebabkan bakteri asam laktat bersifat katalase negatif sehingga enzim hanya merusak senyawa peroksida yang dihasilkan bakteri asam laktat (Sari et al., 2011). Pengujian yang dilakukan terhadap bakteri *Escherichia coli* tidak menunjukkan adanya zona hambat kemungkinan disebabkan karena daerah hambat yang dihasilkan dari bakteriosin terhadap bakteri indikator kecil sehingga ketika diberikan perlakuan dengan penambahan enzim katalase zona hambat tersebut tak terlihat. Pengujian yang dilakukan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* tidak menunjukkan adanya zona hambat, sebab dari pengujian aktivitas bakteriosin tidak memiliki zona hambat. Hasil ini berbeda dengan penelitian Gong et al, menyatakan bahwa *Lactobacillus plantarum* KLDS1.0391 yang diisolasi dari Jiaoke kehilangan sedikit aktivitasnya ketika ditambahkan enzim katalase (Gong et al., 2010).

Pengujian pengaruh pH terhadap aktivitas bakteriosin dilakukan untuk mengetahui ketahanan bakteriosin terhadap berbagai macam pH, khususnya pH asam sampai basa. Hasil pengujian dengan indikator bakteri *Escherichia coli* yaitu pada pH 2 nilai rata-rata zona hambat yang dihasilkan $7,44 \pm 1,26$ mm, pH 4 nilai rata-rata zona hambat $7,38 \pm 1,18$ mm, pH 6 nilai rata-rata zona hambat $6,32 \pm 0,22$ mm, pH 8 dan pH 10 tidak menunjukkan adanya zona hambat (Tabel 1). Berdasarkan hasil pengujian tersebut aktivitas antibakteri tetap terlihat pada rentang pH 2 sampai 6. Berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Ogunbanwo et al, dimana bakteriosin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus plantarum* F1 memiliki aktivitas yang stabil pada pH 2 sampai 6 dan mengalami penurunan aktivitas pada pH 8 sampai 12 (Ogunbanwo et al., 2003). Stabilitas bakteriosin pada skala pH yang berbeda merupakan faktor pembatas untuk direkomendasikan dalam pengaplikasiannya sebagai pengawet pada bahan makanan. Berdasarkan nilai tersebut maka dapat disimpulkan bahwa aktivitas bakteriosin tetap bekerja pada pH 2 sampai 6 dan diharapkan dapat diaplikasikan

Tabel 1. Rata-rata Zona Hambat Pengaruh pH terhadap Aktivitas Bakteriosin pada *Escherichia coli*

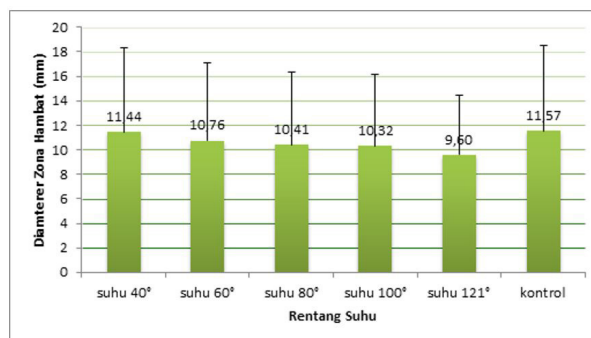
Bakteri	Zona Hambat (mm)					
<i>Escherichia coli</i>	pH 2	pH 4	pH 6	pH 8	pH 10	Kontrol
	7,44	7,38	6,32	0,00	0,00	6,31

sebagai pengawet makanan yang bersifat asam. Pengujian pengaruh pH dengan menggunakan indikator bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan adanya zona hambat pada pH 2 rata-rata $8,21 \pm 0,06$ mm. Namun pada kontrol (dengan pH netral) tidak terbentuk zona hambat seperti yang dapat dilihat pada Gambar 3. Hal ini menunjukkan adanya zona hambat yang terbentuk kemungkinan disebabkan bakteriosin bekerja hanya pada pH rendah terhadap *Staphylococcus aureus*. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Kurniawan, bakteriosin yang dihasilkan oleh berbagai strain *Lactobacillus plantarum* menunjukkan peningkatan aktivitas pada pH rendah (Kurniawan, 2012).

**Pengaruh pH terhadap Aktivitas Bakteriosin pada *Staphylococcus aureus***

Bahan makanan dijaga kualitasnya dengan penambahan bahan pengawet. Pemilihan suatu pengawet mempertimbangkan proses pembuatan makanan. Salah satunya adalah proses pemanasan. Bakteriosin yang akan diaplikasikan pada bahan makanan sebagai pengawet harus memiliki daya tahan terhadap panas. Hasil yang diperoleh dari pengujian aktivitas bakteriosin terhadap pengaruh suhu pemanasan terhadap bakteri indikator *Escherichia coli* yaitu pada suhu 40°C, 60°C, 80°C, 100°C dan 121°C secara berturut-turut terbentuk zona hambat dengan nilai rata-rata $11,44 \pm 6,89$ mm, $10,76 \pm 6,36$ mm, $10,41 \pm 5,92$ mm, $10,32 \pm 5,87$ mm dan $9,60 \pm 4,87$ mm (Gambar 4). Berdasarkan zona hambat yang terbentuk dapat dilihat bahwa bakteriosin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus plantarum* memiliki daya hambat pada bakteri indikator *Escherichia coli* terhadap berbagai suhu pemanasan. Sama seperti penelitian Sankar *et al.*, mengungkapkan bahwa *Lactobacillus plantarum* aktivitasnya tidak menghilang setelah pemanasan pada suhu 121°C selama 10 menit (Sankar *et al.*, 2012). Stabilitas aktivitas antibakteri terhadap pemanasan

sangat penting bagi bakteriosin apabila digunakan sebagai pengawet makanan, sebab berbagai prosedur penyiapan menggunakan proses pemanasan. Beberapa bakteriosin yang berasal dari *Lactobacillus plantarum* yang telah teridentifikasi adalah plantaricin. Plantaricin termasuk kelompok bakteriosin kelas II. Kelompok bakteriosin kelas II merupakan bakteriosin dengan sifat yang tahan panas (Todorov, 2009). Bakteriosin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus plantarum* dari minuman *Ce hun tiau* kemungkinan merupakan bakteriosin kelas II karena sifatnya yang tahan panas.

**Gambar 4. Diagram Rata-rata Zona Hambat Pengaruh Suhu terhadap Aktivitas Bakteriosin pada *Escherichia coli***

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa aktivitas bakteriosin pada uji sensitivitas dengan menggunakan enzim tripsin dan katalase terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* tidak terbentuk zona hambat. Bakteriosin memiliki aktivitas dengan pengujian pengaruh pH pada rentang pH 2 sampai 6. Bakteriosin memiliki aktivitas dengan pemanasan pada rentang suhu 40°C sampai dengan 100°C selama 30 menit dan 121°C selama 15 menit.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami haturkan kepada Prodi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura yang telah memfasilitasi penelitian ini.

DAFTAR ACUAN

Breed RS, Murray EGD, Smith NR. (1957). *Bergey's*

manual of determinative bacteriology (7th ed). USA: The Williams and Wilkins Company; h. 549.

Deslianri L, Sari R, Apridamayanti P.(2016). Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) penghasil bakteriosin dari minuman *Ce hun tiau* yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen. *Pharmaceutical Science and Research*, 3(2).

Gong HS, Meng XC, Wang H. (2010). Plantaricin MG active against Gram-negative bacteria produced by *Lactobacillus plantarum* KLDS1.0391 isolated from “Jiaoke”, a traditional fermented cream from China. *Elviser*, 89-96.

Hatta T, Tanaka R, Ohmomo S. (2010). Isolation and characterization of plantaricin ASM1: A new bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* A-1. *Elviser*, 94-99.

Jack RW, Tagg JR, Ray B. (1995). Bacteriocins of gram positive bacteria. *Microbiological Review*, 59(2), 171-200.

Khoiriyah H, Ardiningsih P, Jayuska, A. (2014). Penentuan waktu inkubasi optimum terhadap aktivitas bakteriosin *Lactobacillus* sp. RED₄. *JKK*, 3(1), 7-12.

Kurniawan FAM. (2012). Analisis ketahanan bakteriosin dari *Lactobacillus plantarum* 1a5, 1b1, 2b2, dan 2c12 pada pH asam dalam menghambat aktivitas bakteri patogen. *Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

Kusmarwati A, Arief, FR, Haryati S. (2014). Eksplorasi bakteriosin dari bakteri asam laktat asal Rusip Bangka dan Kalimantan. *JPB Perikanan*, 9(1), 29-40.

Kusmiati, Malik A. (2002). Aktivitas bakteriosin dari bakteri *Leuconostoc mesenteroides* Pba1 pada berbagai media. *Makara Kesehatan*, 6(1).

Saad MA, Abdelsamei HM, Ibrahim EMA, Abdou AM, El Sohaimy SA. (2015). Effect of pH, heat treatments and proteinase K enzyme on the activity of *Lactobacillus acidophilus* bacteriocin. *Benha Veterinary Medical Journal*, 28(1), 210-215.

Sankar NR, Priyanka VD, Reddy PS, Rajanikanth P, Kumar VK, Indira M. (2012). Purification and characterization of bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* isolated from cow milk. *International Journal of Microbiology Research*, 3 (2), 133-137.

Sari R, Cesilia A, Maksum R, Amarila M. (2011). Skrining bakteriosin dari beberapa galur bakteri asam laktat isolat lokal genus *Streptococcus* dan *Weissella*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 9(2), 116-121.

Shahmohammad M, Javadi M, Nassiri-Asl M. (2016). An overview on the effects of sodium benzoate as a preservative in food products. *Biotechnology Health Science*, 3(3).

Sifour M, Tayeb I, Haddar HO, Namous H, Aissaoi. (2012). Production and characterization of bacteriocin of *Lactobacillus plantarum* F12 with inhibitory Activity Against *Listeria monocytogenes*. *TOJSAT*, 2(1), 55-61.

Todorov SD. (2009). Bacteriocin from *Lactobacillus plantarum* – production genetic organization and mode of action. *Brazilian Journal of Microbiology*, 40, 209-221.

Todorov SD, Dicks LMT. (2005). Effect of growth medium on bacteriocin production by *Lactobacillus plantarum* ST 194BZ, a strain isolated from boza. *Journal Food Technology Biotechnology*, 43 (2), 165-173.

Todorov SD, Holzapfel W, Nero LA. (2015). Characterization of a novel bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* ST8SH and some aspects of its mode of action. *Ann Microbiol*.

Twomey D, Ross RP, Ryan M, Meaney B, Hill C. (2002) Lantibiotics produced by lactic acid bacteria: structure, function and applications. *Antonie van Leeuwenhoek*, 82, 165–185.

Waluyo L. (2008). *Teknik dan metode dasar dalam mikrobiologi*. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang Press.